

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität Zürich
(Direktion: Prof. Dr. P.G. Waser)

Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. A.A. Borbély

Untersuchungen über aktivitätsbeeinflussende Faktoren im Liquor von Ratten

I. Aktivitätshemmende Faktoren

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
JOSEF SACHS
von Beinwil/Freiamt AG

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. P.G. Waser

ADAG Administration & Druck AG

Zürich 1980

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität Zürich

(Direktion: Prof. Dr. P.G. Waser)

Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. A.A. Borbély

Untersuchungen über aktivitätsbeeinflussende Faktoren im Liquor von Ratten

I. Aktivitätshemmende Faktoren

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
JOSEF SACHS
von Beinwil/Freiamt AG

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. P.G. Waser

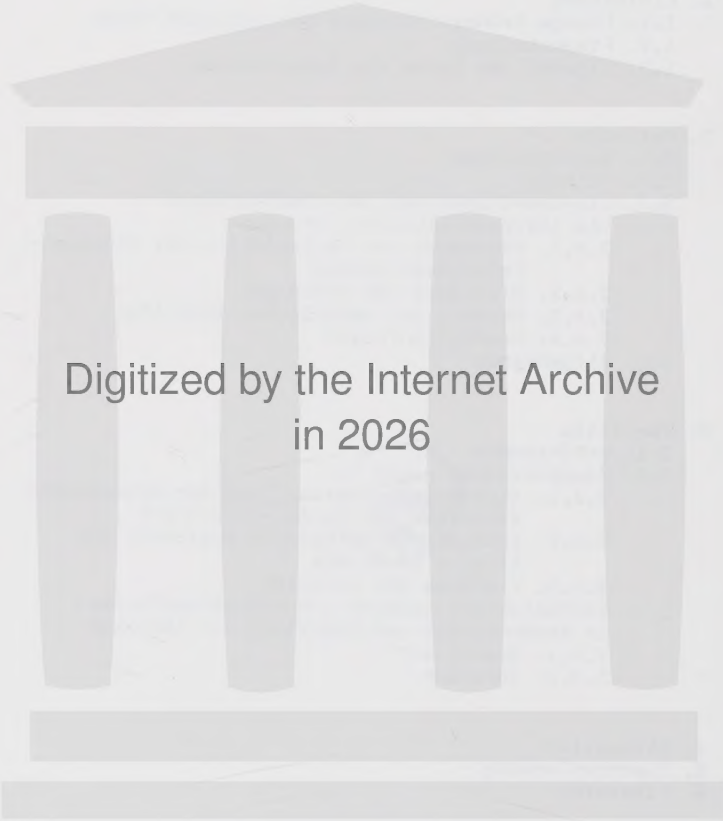
ADAG Administration & Druck AG

Zürich 1980



INHALT

1. Einleitung
 - 1.1. Einige frühere Versuche zum gleichen Thema
 - 1.2. Fragestellung
 - 1.3. Eignung der Ratte als Versuchstier
2. Methodik
 - 2.1. Versuchstiere
 - 2.2. Prinzip
 - 2.3. Liquorentnahme bei den Donatortieren
 - 2.4. Die intraventrikuläre Infusion
 - 2.4.1. Procedere der Implantation der intraventrikulären Kanüle
 - 2.4.2. Procedere der Infusion
 - 2.4.3. Messung der motorischen Aktivität
 - 2.4.4. Kontrollinfusion
 - 2.5. Allgemeines
3. Resultate
 - 3.1. Vorversuche
 - 3.2. Hauptversuche
 - 3.2.1. Stundenweise Darstellung der motorischen Aktivität von 10.00 - 13.00 Uhr
 - 3.2.2. Integrierte motorische Aktivität von 10.00 - 12.00 Uhr
 - 3.2.3. Einfluss der Infusion
 - 3.3. Verhalten von Gewicht und Nahrungsaufnahme in Abhängigkeit von Operation und Infusion
 - 3.3.1. Operation
 - 3.3.2. Infusion
4. Diskussion
5. Zusammenfassung
6. Literatur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507203_0034

1. EINLEITUNG

1.1. EINIGE FRÜHERE VERSUCHE ZUM GLEICHEN THEMA

Im letzten Jahrhundert wurde der Schlaf vor allem als ein passiver Zustand mit Verlust von Wachsamkeit und Selbstbewusstsein betrachtet (?).

Als erster hat der Schweizer Psychiater Claparède eine aktive Schlaftheorie entworfen. Er wies darauf hin, dass "unter normalen Umständen das Schlafbedürfnis der Erschöpfung zeitlich vorausgeht" und definiert den Schlaf als "eine Tätigkeit reflektorischer Art, die instinktiv den Funktionsstillstand zum Ziel hat; dieser Vorgang findet nicht statt, weil wir uns in einem Intoxikations- oder Erschöpfungszustand befinden, sondern wir schlafen, um nicht in diesen Zustand hineinzugeraten" (3).

Auf der Basis dieser These liessen sich auch die experimentellen Beobachtungen erklären, die 1913 Piéron veröffentlichte (6, 14). Piéron suchte nach einer "action hypnotoxique" in der Körperflüssigkeit von Hunden, die nach einem künstlich verlängerten Wachzustand in den Tieren ein imperatives Schlafbedürfnis hervorruft. Zu diesem Zweck erzeugte er bei seinen Donator-Tieren einen experimentellen Schlafentzug von 30 bis 50 Stunden und injizierte deren Serum und Hirnplasma (Presssaft von Hirnextrakt) in den 4. Ventrikel von Rezeptortieren. In der Tat beobachtete der Autor bei den Rezeptorhunden nach 30 bis 45 Minuten eine zunehmende Somnolenz. Durch weitere Versuche gelang es Piéron, den Vektor dieser "action hypnotoxique" (das "Hypnotoxin") zu charakterisieren als eine Substanz, die sich auszeichnet durch Thermolabilität (Inaktivierung durch fünfminütiges Erhitzen auf 65°C), Oxygenolabilität, Nichtdialysierbarkeit, Alkoholunlöslichkeit und Wasserlöslichkeit. Der Autor versuchte auch, eine Abgrenzung von der Wirkung toxischer Stoffwechselprodukte vorzunehmen. Er fand insbesondere, dass muskuläre Müdigkeit, wie sie durch intensive Muskelarbeit hervorgerufen wird, weder wie beim Schlafentzug zu einem imperativen Schlafbedürfnis führt, noch sich mit dem Serum Übertragen liess.

Diese Phänomene wurden 1939 von Schnedorf und Ivy bestätigt (17).

Zu den wegweisenden Arbeiten gehören heute die Versuche, die Monnier und seine Mitarbeiter in Basel veröffentlicht haben (8, 9, 18).

Spender-Tieren, die durch elektrische Stimulation des medioventralen intralaminaren Thalamus in einen ausschliesslich orthodoxen Schlafzustand versetzt wurden, wurde aus venösem Hirnblut ein Hämodialysat entnommen. Dieses wurde

ins mesodiencephale Ventrikelsystem wacher Rezeptor- Tiere infundiert. Drei Parameter dokumentierten den hypnogenen Effekt des Dialysats:

1. Das EEG: er fand einen ausschliesslich orthodoxen Schlaf mit vermehrter Delta- Aktivität nach einer Latenz von 10 Minuten.
2. Kinesigraphie: starke Erniedrigung der motorischen Aktivität.
3. Autonome Indikatoren: mässige Erniedrigung von Respiration und Herzfrequenz.

Weitere Versuche zur Isolation und biochemischen Analyse eines Schlaffaktors Delta ergaben, dass es sich beim hypnogenen Dialysat um ein Oligopeptid handeln muss mit 9 Aminosäuren (1 Ser, 1 Glu, 3 Gly, 2 Ala, 1 Arg + Trp als N- Terminal) und einem Molekulargewicht von ungefähr 860. Als effektive Dosis der hoch hypnogenen Endfraktion erwies sich $3,3 \cdot 10^{-9}$ M/kg intraventrikulär infundiert in 0.5 ml künstlichem Liquor innerhalb von 25 Minuten.

Aus dem Dialysat wurde ausserdem eine weckende Fraktion isoliert.

Von grundlegender Bedeutung sind ferner die Arbeiten der Gruppe um Pappenheimer (5, 13).

Ihr dienten als Donator- Tiere Schafe und Ziegen. Nach 48 Stunden Schlafentzug wurde den Tieren entweder durch eine ständig implantierte Cisterna- Kanüle Liquor entnommen oder aber sie dienten zur Herstellung eines Hirngewebeextrakts. Durch verschiedene Filtrationsmethoden wurden sämtliche Teilchen mit einem Molekulargewicht unter 350 und über 500 eliminiert.

Als Rezeptortiere wurden Ratten und Kaninchen gewählt. Die Ratten erhielten 0.1 ml der Fraktion in den 30 Minuten unmittelbar vor Beginn der 12- Stunden- Dunkelperiode intraventrikulär infundiert, die Kaninchen 0.3 ml/ 90 min. am Morgen.

Messungen der motorischen Aktivität ergaben, dass ein 20 - faches Liquorkonzentrat oder das Material von 1 g Cortex oder Stammhirn dieselbe bei den Ratten auf 50% in den ersten 6 Stunden und auf 65% in den zweiten 6 Stunden nach der Infusion reduzierte. In der folgenden Nacht trat eine vollständige Erholung ein. Kontrolle: NaCl- Infusion reduzierte die motorische Aktivität auf 70% in den ersten 6 Stunden mit vollständiger Erholung in der zweiten Hälfte der Nacht.

Pappenheimer bezeichnete seine auf diese Weise nachgewiesene schlaffördernde Substanz als Faktor S und zeigte, dass sie Peptidbindungen aufweisen müsse: durch Inkubation mit Pronase (10 g/ml, 37°C, 1 Std.) konnte der Faktor S nämlich inaktiviert werden.

Der von Pappenheimer nachgewiesene Faktor S unterscheidet sich wesentlich vom von Monnier nachgewiesenen Faktor Delta:

- Der Faktor Delta weist ein Molekulargewicht von ungefähr 900 auf, sein Effekt tritt schon während der Infusion ein und überdauert diese nur wenige Minuten.
- Der Faktor S hingegen hat ein Molekulargewicht von 350 bis 500, sein Effekt tritt erst 2 Stunden nach der Infusion ein und dauert 5 oder mehr Stunden (13).

Viel besser ist die Übereinstimmung von Faktor S mit der vom Japaner Nagasaki beschriebenen schlaffördernden Substanz:

Nagasaki (12) und seine Mitarbeiter entzogen ihren Donator-Ratten für 24 Stunden den Schlaf durch Elektroschock. Dann wurden die Ratten getötet und ihr Hirnstamm homogenisiert und lyophilisiert.

Dieser Hirnextrakt wurde den Rezeptor-Ratten um 12.00 Uhr ohne Anästhesie intraperitoneal injiziert. Der Effekt wurde festgehalten durch:

1. Die lokomotorische Aktivität: Sie erfuhr in den drei Experimenten eine Reduktion von 17.9, 35.5 und 12.7%.
2. Die Delta-Wellen im EEG: Sie nahmen in der Zeit nach der Injektion zu.
3. Die totale Schlafzeit: Sie stieg um 27.6% in den ersten 24 Stunden nach der Injektion und kehrte in den zweiten 24 Stunden auf normale Werte zurück.

1.2. FRAGESTELLUNG

Die vorliegende Arbeit versucht, folgende Probleme einer Lösung näher zu bringen:

1. Ist die ventrikuläre Infusion für pharmakologische Untersuchungen am freien Tier geeignet, oder wird das Verhalten zu sehr gestört? Mehr noch als bei Infusionen während der aktiven (Dunkel-) Phase der Ratten, wie sie in dieser Arbeit beschrieben werden, wird das Problem natürlich bei Infusionen in der Ruhephase (Hellperiode) aktuell (vergleiche Dissertation von J. Ungar: Aktivitätsfördernde Substanzen).

2. Gibt es Faktoren, die den 24- Stunden- Aktivitätsrhythmus der Ratten bestimmen und sich mit dem Liquor übertragen lassen? Lassen sich insbesondere

- a) ein aktivitätshemmendes und

- b) ein aktivitätsförderndes

Prinzip nachweisen?

Diese Arbeit soll sich speziell mit dem aktivitätshemmenden Prinzip befassen, während eine gleichzeitig erarbeitete Dissertation sich mit dem aktivitätsfördernden Prinzip auseinandersetzt.

In den bisherigen Arbeiten zu diesem Thema, wie sie unter 1.1. in ihren Schwerpunkten zusammengefasst wurden, wurde immer versucht, eine Schlafsubstanz mit dem Liquor von Tieren zu übertragen, die entweder für eine gewisse Zeit am natürlichen Schlaf gehindert (Piéron, Pappenheimer, Nagasaki) oder künstlich in einen Schlafzustand versetzt worden waren (Monnier).

Als Ergänzung haben wir mit den im folgenden beschriebenen Experimenten versucht,

1. Die Wirkung der aktivitätshemmenden Substanz in den Liquorkonzentrationen zu untersuchen, wie sie im normalen Tagesrhythmus vorkommen.
2. Alle Parameter, die die Aktivität über den normalen circadianen Rhythmus hinaus beeinflussen, aususchalten, beziehungsweise möglichst konstant zu halten.

Zu diesem Zweck verzichteten wir auf jeden Schlafentzug, der einerseits eine unnatürlich hohe Liquorkonzentration eines aktivitätshemmenden Prinzips bedingen würde, und andererseits den Faktor Stress als zusätzlichen aktivitätsbeeinflussenden Parameter erscheinen lassen würde.

1.3. EIGNUNG DER RATTE ALS VERSUCHSTIER

Es sind vor allem drei Gründe, die die Ratte als Versuchstier anbieten:

1. Das Langzeitverhalten ist gut untersucht
 2. Deutlich unterschiedliche Motorik zwischen Hell- und Dunkelphase.
 3. Die Motorik wird beeinflusst durch
 - a) hell/ dunkel
 - b) den endogenen circadianen Rhythmus
- (1, 2)

Da nach Richter (14) die tägliche lokomotorische Aktivität der einzelnen Ratte relativ konstant ist im Vergleich zu Variationen zwischen verschiedenen Ratten, dient jede Ratte als ihre eigene Kontrolle.

2. METHODIK

2.1. VERSUCHSTIERE

Sowohl bei den Donator- als auch bei den Rezeptor-Ratten handelte es sich um männliche Sprague-Dawley-Ratten des Stammes SIV 50, die zur Zeit der Implantation der intraventrikulären Kanüle ein Gewicht zwischen 290 und 310 g aufwiesen (zur Zeit der Infusion zwischen 270 und 370 g).

Sie wurden alle während mindestens 10 Tagen an einen Hell-Dunkel-Rhythmus gewöhnt, der eine Hellperiode von 12.00 Uhr bis 24.00 Uhr und eine Dunkelperiode von 24.00 Uhr bis 12.00 Uhr aufwies. In den Käfigen der Größe 37 x 21 x 14.5 cm konnten sich die Ratten stets (auch während der Infusion) frei bewegen. Die Käfige befanden sich in einem Keller bei einer konstanten Temperatur von 24°C, wo sie weitgehend ungestört von der Betriebsamkeit des Instituts waren. Die Fütterung der Tiere und die Säuberung der Käfige erfolgte täglich zwischen 17.00 Uhr und 18.00 Uhr unter Vermeidung jeder unnötigen Störung. Musste der Raum während der Dunkelperiode betreten werden (etwa zur Liquorentnahme oder um eine Infusion in Gang zu bringen), so geschah dies bei Rotlicht; auch dann wurde selbstverständlich möglichst geräuscharm gearbeitet.

2.2. PRINZIP

Wir gewannen Liquor von Donator-Ratten

1. Während der Dunkelperiode, die der aktiven Phase der Ratten entspricht (Dunkelliquor, DL).
2. Während der Hellperiode, die der Ruhephase der Ratten entspricht (Hellliquor, HL).

Der gewonnene Liquor wurde jeweils während der Dunkelperiode in den lateralen Ventrikel der Rezeptor-Ratten infundiert. Während 3 Stunden nach der Infusion wurde die motorische Aktivität der Tiere gemessen und verglichen mit dem Effekt der Infusion von künstlichem Liquor (KL).

Um den Effekt der Infusionsprozedur selbst zu prüfen, verglichen wir die motorische Aktivität der nichtinfundierten Tiere mit derjenigen nach der Infusion von KL.

2.3. LIQUORENTNAHME VON DEN DONORTIEREN

Die Liquorentnahme erfolgte unter Äthernarkose mit Wattebausch. Dann wurde die Membrana atlanto-occipitalis freigelegt und mit einer Spritze 0.1 - 0.2 ml Liquor cerebrospinalis aus der Cisterna magna gewonnen. Die Entnahme ab Beginn der Narkose dauerte etwa 3 Minuten. Die Einrichtung des Kellers, in dem sich die Käfige befanden, gestattete es, die ganze Prozedur vorzunehmen, ohne die übrigen Ratten wesentlich zu stören.

Bei einer ersten Serie wurde der Liquor um 10.30 Uhr entnommen (Dunkelliquor), bei einer zweiten Serie um 13.30 Uhr (Hellliquor).

Der so gewonnene Liquor wurde zentrifugiert (10 min. bei 10 000 U/min), um ihn von eventuellen zellulären Verunreinigungen zu befreien. Darauf wurde er während 10 Minuten evakuiert, um mögliche Ätherreste auszutreiben (vgl. unter 3.2.). Die Aufbewahrung bis zu seiner weiteren Verwendung zur intraventrikulären Infusion erfolgte im Tiefkühlraum bei -20°C .

2.4. DIE INTRAVENTRIKULÄRE INFUSION

2.4.1. PROCEDURE DER IMPLANTATION DER INTRAVENTRIKULÄREN KANÜLEN

Die Rezeptor- Ratten wurden für die Operation unter Narkose gesetzt (0.5 ml 1%iges Pentobarbital pro 100 g Rattengewicht intraperitoneal). Auf dem Schädeldach wurden die Haare bis auf Augenhöhe geschoren. Darauf wurden die Ratten in einem stereotaktischen Kopfhalter fixiert. Am Schädel wurden gemäss Skizze 3 Schrauben angebracht, die als Befestigungspunkte für den Zement dienen sollten. Vom Bregma als Nullpunkt ausgehend wurden die planaren Koordinaten eines günstigen Punktes im Lumen des rechten lateralen



Ventrikels (0.4/ 1.6 mm) mit dem Zirkel abgemessen. Am so erhaltenen Punkt wurde mittels eines Handbohrers ein Loch bis in den Epiduralraum gebohrt. Für die Platzierung der Kanüle in der 3. Dimension (4 mm tief) wendeten wir die von Myers beschriebene Methode an (10): Der Kopf der Ratte war so in einem Halter fixiert, dass das Os parietale senkrecht zu einem Mikromanipulator stand, welche die zu implantierende 22er Kanüle trug. Die Kanüle war mit einem Infusomat verbunden, welcher 3.3 ml/min künstlichen Liquor pumpte. Durch einen T- Schlauch war ausserdem ein Manometer mit einem Schreiber zwischen Infusomat und Kanüle angeschlossen. Durch langsames Drehen des Mikromanipulators wurde nun die Kanüle unter gleichzeitiger Druckregistrierung durch Dura und Cerebrum in den lateralen Ventrikel eingeführt. Nach einem Druckanstieg beim Durchtritt durch die Hirnmasse zeigte ein abrupter Druckabfall den Eintritt der Kanüle in den Ventrikel an.

Darauf wurde die Kanüle mit einem Zement an den drei in den Schädel eingelassenen Schrauben fixiert. Um das Verstopfen der Kanülen zu verhindern wurden sie mit einem nahezu lumenfüllenden Mandrain ausgestattet.

Der endgültige Beweis für den richtigen Sitz der Kanülen wurde stichprobeweise nach Beendigung aller Experimente durch Sektion der Ratte und Anfertigung von methylenblau-gefärbten Hirnschnitten erbracht.

Den Ratten wurde nach der Operation bis zur ersten Infusion eine Erholung von mindestens 7 Tagen zugestanden.

2.4.2. PROCEDERE DER INFUSION

Die intraventrikuläre Infusion wurde jeweils von 9.30 Uhr bis 10.00 Uhr in den normalen Käfigen der Ratten vorgenommen. Die Versuchsanordnung war so, dass sich die Ratten auch während der Infusion frei bewegen konnten und durch die Infusionszuleitung nicht gestört wurden.

Der zu infundierende Liquor wurde vorher aufgetaut und auf 37°C erwärmt, dann in den Infusionsschlauch eingefüllt.

Die Infusion selbst erfolgte mit dem gleichen Infusomat ("Dauerinfusionsapparatur Unita"), die wir bereits für die Druckregistrierung bei der Implantation der Kanülen verwendet haben. Die Infusionsgeschwindigkeit betrug 3.3 l/min. Das ganze Procedere wurde bei Rotlicht vorgenommen, um den Hell/ Dunkel- Rhythmus der Ratten möglichst nicht zu beeinflussen.

2.4.3. MESSUNG DER MOTORISCHEN AKTIVITÄT

Die Messung der motorischen Aktivität erfolgte durch Registrierung der Kraft unter dem Käfig für mindestens 3 Stunden nach der Infusion (Methode nach Borbély, 1970, (3)).

Die Ausgangsspannung, die die Kraftänderung in vertikaler Richtung wiedergab, wurde kontinuierlich über einen RC- Kreis integriert (konstante Zeit 320 sec) und mit einem Punktschreiber registriert.

Die Auswertung der auf diese Weise erhaltenen Aktivitätskurve erfolgte, indem die alle 5 min. gemessenen Ordinaten über eine Stunde addiert wurden. Die Papiergeschwindigkeit betrug 1 mm/ min.

2.4.4. KONTROLLINFUSION

Als Kontrollösung haben wir einen künstlichen Liquor der folgenden Zusammensetzung infundiert:
aq. dest.; Na 150.0 mM; K 5.1 mM; Ca 1.82 mM; Cl 158.7 mM (11).

2.5. ALLGEMEINES

Die Reihenfolge der Infusionen wurde zufällig variiert. Zwischen zwei aufeinanderfolgenden Infusionen bei derselben Ratte wurde jeweils ein Abstand von mindestens drei Tagen eingehalten.

3. RESULTATE

Die motorische Aktivität wird im folgenden mit einer Zahl angegeben, die in ihrem Betrag gleich der Summe der alle 5 Minuten in cm gemessenen Ordinaten der Aktivitätskurve ist (vgl. unter 2.4.3.).

Die in Klammern angegebenen Prozentzahlen beziehen sich jeweils auf die Abweichung der Aktivität im Vergleich zur Infusion mit künstlichem Liquor.

3.1. VORVERSUCHE

Um zu prüfen, ob - bedingt durch die Aethernarkose der Spenderratten - eventuelle Aetherrückstände im Liquor die Resultate verfälschen könnten, wurden folgende Vorversuche gemacht:

a) keine Aetherevakuation des infundierten Liquors:

Ratte \ Infusion	K	KL	DL	HL
A	148.1	166.4 (100%)	72.8 (43.7%)	59.6 (35.8%)

Tab.1. K= Kontrolle (keine Infusion); KL= Infusion mit künstlichem Liquor; DL= Infusion mit Dunkelliquor; HL= Infusion mit Helli liquor. Die motorische Aktivität wurde jeweils von 10.00 - 12.00 Uhr gemessen und ist in arbiträren Einheiten angegeben.

b) bei einer 2. Infusion wurde eine Aetherevakuation vorgenommen (vgl. unter 2.3.):

Ratte \ Infusion	K	KL	DL	HL
B	171.0	107.1 (100%)	131.4 (122.7%)	50.1 (46.8%)

Tab.2. K= Kontrolle (keine Infusion); KL = Infusion mit künstlichem Liquor; DL= Infusion mit Dunkelliquor; HL= Infusion mit Helli liquor. Die motorische Aktivität wurde jeweils von 10.00 - 12.00 Uhr gemessen und ist in arbiträren Einheiten angegeben.

Der ätherevakuierte Helli liquor verminderte also die motorische Aktivität gegenüber dem künstlichen Liquor auf 46.8%, während der nicht- ätherevakuierte sie auf 35.8% senkte.

Obwohl es dieser einzige Versuch nicht erlaubt, die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Ratten auf die Aether-evakuation zurückzuführen, müssen wir offenbar doch mit einer Verfälschung der Resultate durch den Aether rechnen. Wir haben deshalb im folgenden alle HL und DL nach der Entnahme ätherevakuiert.

3.2. HAUPTVERSUCHE

3.2.1. STUNDENWEISE DARSTELLUNG DER INTEGRIERTEN MOTORISCHEN AKTIVITÄT VON 10.00 H BIS 13.00 H Vgl. Tab. 3

Als Vergleichswert für die relative Darstellung der Ergebnisse haben wir hier die Höhe der motorischen Aktivität von 10.00 H bis 11.00 H nach KL- Infusion (= 100%) gewählt.

Wir stellen fest, dass die Infusion von HL die motorische Aktivität senkt, und zwar im Durchschnitt auf 80.1% (KL: 100%) in der ersten Stunde post infusionem, auf 52.2% (KL: 73.4%) in der 2. Stunde und auf 35.2% (KL: 37.1%) in der 3. Stunde, welche der ersten Stunde der Hellperiode entspricht (vgl. Abb. 1 und Tab. 4.).

Eine signifikante Erniedrigung der motorischen Aktivität durch die Infusion von HL haben wir also während der 1. ($p < 0.05^*$) und der 2. ($p < 0.025^*$) Stunde. Keine signifikante Aenderung fanden wir in der 3. Stunde nach Infusion von HL, sowie in allen 3 Stunden nach Infusion von DL.

Nach 13.00 H haben wir jeweils keinen Effekt der Infusionen mehr festgestellt.

*) Einseitiger Wilcoxon- Rangtest, angewendet auf den Unterschied der Wirkungen von DL und HL auf die motorische Aktivität. (Einseitiger Test auf Grund der aufgestellten Hypothese).

Ratte	Infusion		KL		DL		IIL	
	Zeit	cm	%	cm	%	cm	%	
1	10-11	63.0	100.0	96.4	153.0	57.9	91.9	
	11-12	78.0	123.8	72.8	115.6	82.0	130.2	
	12-13	36.5	57.9	29.3	46.5	54.5	86.5	
2	10-11	119.7	100.0	70.6	59.0	76.0	63.4	
	11-12	37.8	31.6	51.9	43.4	31.5	26.3	
	12-13	32.3	27.0	26.5	22.1	18.0	15.0	
3	10-11	90.4	100.0	123.4	136.5	107.7	119.1	
	11-12	69.4	76.8	115.7	128.0	97.1	107.4	
	12-13	40.5	44.8	35.9	39.7	52.9	58.5	
4	10-11	88.2	100.0	122.0	138.3	80.3	91.0	
	11-12	76.0	86.2	71.2	80.7	67.6	76.6	
	12-13	37.4	42.4	37.9	43.0	29.5	33.4	
5	10-11	95.3	100.0	76.7	80.5	100.7	105.7	
	11-12	61.1	64.1	77.5	81.3	26.4	27.7	
	12-13	15.6	16.4	22.2	23.3	42.9	45.0	
6	10-11	101.8	100.0	106.4	104.5	83.2	81.7	
	11-12	68.2	67.0	22.8	22.4	25.2	24.8	
	12-13	41.0	40.3	18.8	18.5	10.3	10.0	
7	10-11	134.6	100.0	109.2	81.1	62.8	46.7	
	11-12	111.7	83.0	82.4	61.2	32.6	24.2	
	12-13	40.7	30.2	26.7	19.6	28.5	21.2	
8	10-11	86.2	100.0	56.5	65.5	56.5	65.5	
	11-12	60.3	70.0	59.3	68.8	23.9	27.7	
	12-13	41.0	47.6	20.8	24.1	16.5	19.1	
9	10-11	67.7	100.0	66.2	97.8	38.1	56.3	
	11-12	39.4	58.2	65.2	96.3	17.0	25.1	
	12-13	18.3	27.0	41.0	60.6	19.1	28.2	

Tab.3. Stundenweise Darstellung der integrierten motorischen Aktivität, absolut (in arbiträren Einheiten) und relativ (motorische Aktivität von 10.00 - 11.00 Uhr nach KL- Infusion gleich 100%). KL= Künstlicher Liquor; DL= Dunkelliquor; HL= Helli liquor.

Die Infusionen bewirkten also folgende durchschnittliche relative Aenderungen der motorischen Aktivität:

T \ I	KL (%)	DL (%)	HL (%)
10 - 11	100.0	101.8	80.1
11 - 12	73.4	77.5	52.2
12 - 13	37.1	33.0	35.2

Tab.4. Durchschnittliche relative Aenderungen der motorischen Aktivität durch die Infusionen. KL= Künstlicher Liquor; DL= Dunkelliquor; HL= Helli liquor. I= Infusion; T= Zeit (Stunde).

3.2.2. INTEGRIERTE MOTORISCHE AKTIVITÄT VON 10.00 - 12.00 UHR

Für die integrierte motorische Aktivität von 10.00 bis 12.00 Uhr haben wir eine signifikantere Erniedrigung durch HL gefunden als für die stundenweise integrierte motorische Aktivität ($p < 0.005$). Die Infusion von DL hat wiederum keinen sichtlichen Effekt im Vergleich zu KL. Vergleiche dazu Tab.5.

R \ I	KL (%)	DL (%)	HL (%)
	cm	cm	cm
1	141.0(100.0)	169.2(120.0)	139.9(99.2)
2	157.5(100.0)	122.5(77.8)	108.0(68.6)
3	156.4(100.0)	154.2(98.6)	127.1(81.3)
4	164.2(100.0)	194.7(118.6)	147.9(90.1)
5	158.8(100.0)	239.1(149.6)	204.8(128.2)
6	146.5(100.0)	115.8(79.0)	80.4 (54.9)
7	170.0(100.0)	129.2(76.0)	108.4(63.8)
8	246.3(100.0)	191.6(77.8)	95.4(38.7)
9	107.1(100.0)	131.4(122.7)	50.1(46.8)

Tab.5. Integrierte motorische Aktivität von 10.00 bis 12.00 Uhr, absolut (in arbiträren Einheiten) und relativ (Aktivität nach KL- Infusion gleich 100 %). KL= Künstlicher Liquor; HL= Helli liquor; I= Infusion; R= Ratte.

Im Durchschnitt beträgt also die motorische Aktivität von 10.00 bis 12.00 Uhr nach DL- Infusionen 102.2% und nach HL- Infusionen 74.6% von derjenigen nach KL- Infusionen.

3.2.3. "EINFLUSS DER INFUSION"

Die Infusion von künstlichem Liquor erhöhte die motorische Aktivität in der 1. Stunde post infusionem auf 123.3% (Aktivität der nichtinfundierten Tiere = 100%). In der 2. Stunde sank sie auf 75.1%, um mit dem Einschalten des Lichtes um 12.00 Uhr wieder auf 121.1% anzusteigen (*). Berechnet man den Einfluss der Infusion auf die integrierte motorische Aktivität von 10.00 bis 12.00 Uhr, so erhalten wir nur eine nichtsignifikante Erhöhung auf 106.2%.

*) $p < 0.02$ für die 1. Stunde und < 0.05 für die 2. Stunde.
Keine Signifikanz für die 3. Stunde. (Zweiseitiger Wilcoxon- Rangtest)

Rate	Zeit	10-11		11-12		12-13		10-12	
		cm	%	cm	%	cm	%	cm	%
1	K KL	67.7 63.0	93.1	94.9 78.0	82.2	33.7 36.5	108.3	162.6 141.0	86.7
2	K KL	68.9 119.7	173.7	72.1 37.8	52.4	22.2 32.3	145.5	141.0 157.5	111.7
3	K KL	64.5 95.3	147.3	68.2 61.1	89.6	37.1 15.6	42.0	132.7 156.4	117.9
4	K KL	76.8 88.2	115.1	83.6 76.0	90.9	30.6 37.4	122.2	160.4 164.2	102.4
5	K KL	90.2 90.4	100.2	66.1 69.4	105.0	22.9 40.5	176.9	157.3 159.8	101.6
6	K KL	82.9 86.2	104.0	124.8 60.3	48.3	33.4 41.0	122.8	207.7 146.5	70.5
7	K KL	73.9 101.8	137.8	100.0 68.2	68.2	14.6 41.0	280.8	173.9 170.0	97.8
8	K KL	98.8 134.6	136.2	109.9 111.7	101.6	73.4 40.7	155.4	208.7 246.3	118.0
9	K KL	66.4 67.7	102.0	104.6 39.4	37.7	51.0 18.3	35.9	171.0 107.1	62.6

Tab.6. Einfluss der Infusion von künstlichem Liquor (KL) auf die motorische Aktivität der Ratten im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Infusion (K), deren Aktivität für jede einzelne Rate gleich % gesetzt ist. Zeit: 10.00 bis 13.00 Uhr.

3.3. VERHALTEN VON GEWICHT UND NÄHRUNGS-AUFNAHME IN ABHÄNGIGKEIT VON OPERATION UND INFUSION

3.1.1. OPERATION

Am ersten postoperativen Tag beobachteten wir regelmässig eine Gewichtsabnahme zwischen 14 und 44 Gramm.

Am 2. postoperativen Tag begann in der Regel das Gewicht wieder anzusteigen, mit Ausnahme von 3 Ratten, die auch am 2. Tag noch etwas abnahmen.

Das ursprüngliche Gewicht wurde jeweils zwischen dem 5. und 14. Tag wieder erreicht.

3.3.2. INFUSION

Eine eindeutige Beeinflussung von Körpergewicht und Aufnahme fester Nahrung durch die Infusionen konnten wir nicht feststellen. Immerhin ist es aber auffällig, dass bei 5 Ratten am Abend nach der DL- Infusion das Gewicht zwischen 2 und 11 Gramm zurückgegangen war ohne einen entsprechenden Rückgang der Nahrungsaufnahme. Bei den anderen Infusionen machten wir keine entsprechenden Feststellungen.

4. DISKUSSION

1. Wie wir gesehen haben, erhöhte die Prozedur einer intraventrikulären Infusion die motorische Aktivität in der 1. Stunde post infusionem auf durchschnittlich 123,3% des Wertes nichtinfundierter Tiere. In der 2. Stunde hingegen sank sie auf 75,1%, was man als kompensatorische Aktivitätsverminderung nach einer Stunde mit vermehrter Aktivität deuten könnte. Nimmt man beide Stunden zusammen, so findet man keine signifikante Änderung der motorischen Aktivität (106,2%). In der 3. Stunde (die in unserer Versuchsanordnung sich bereits in der Hellphase befand) fanden wir keine einheitliche Veränderung der motorischen Aktivität.

Ferner konnten wir eine eindeutige Abhängigkeit der motorischen Aktivität von der Art der infundierten Lösung feststellen (KL und DL einerseits, HL anderseits).

Bei Verwendung jeder Ratte als ihre eigene Kontrolle und Benutzung von künstlichem Liquor nach Myers (11) als Kontrollinfusion hat sich also die intraventrikuläre Infusion für pharmakologische Untersuchungen am freien Tier bewährt.

Die motorische Aktivität während der Infusion selbst haben wir zwar registriert, aber wegen der doch offensichtlich starken Störung des Verhaltens der Ratten nicht ausgewertet.

2. Die Infusion von HL von 9.30 - 10.00 Uhr bewirkte eine signifikante Erniedrigung der Aktivität auf 80,1% (Aktivität nach KL - Infusion = 100%) in der Stunde von 10.00 - 11.00 Uhr und auf 52,2% (KL: 77,5%) von 11.00 - 12.00 Uhr, während von 12.00 - 13.00 Uhr keine Beeinflussung der motorischen Aktivität mehr festzustellen war. Die Infusion von DL hatte im Vergleich mit KL keinen signifikanten Effekt. Betrachten wir die integrierte motorische Aktivität von 10.00 - 12.00 Uhr und setzen sie für die KL - Infusion gleich 100%, so beträgt sie für die DL- Infusion 102,2%, für die HL - Infusion hingegen im Durchschnitt 74,6%.

Wir können also feststellen, dass die Infusion von HL die motorische Aktivität in der ersten und zweiten Stunde post infusionem um je ungefähr 20% herabsetzte, während eine DL- Infusion keinen Effekt hatte.

Eine genauere Angabe über Latenz und Wirkungsdauer des sedativen Effekts von HL können wir auf Grund unserer Experimente nicht machen, da einerseits der akzidentelle exzitatorische Effekt während der Infusion selber zu gross ist und anderseits in der dritten Stunde post infusionem der Wechsel von der Hell- in die Dunkelphase als komplizierender Faktor hinzukommt.

Es taucht nun die Frage auf, ob der mit dem Liquor übertragene sedative Faktor lediglich ein biochemisches Korrelat der aktuellen motorischen Aktivität der Tiere sei, oder ob er tatsächlich der Schlafinduktion diene. Immerhin weist die von anderen Autoren beschriebene Tatsache, dass Schlafentzug zur Akkumulierung des erwähnten Faktors zu führen scheint, auf letztere Möglichkeit hin (6, 12, 13, 14).

Im Zusammenhang mit dem exzitatorischen Faktor, wie er in den Arbeiten von Monnier und Pappenheimer, sowie in der Dissertation von J. Ungar nachgewiesen wurde, wäre die interessante Hypothese denkbar, dass es humorale Faktoren gibt, die den circadianen Rhythmus von Ruhe und Aktivität regeln. Die Schlafinduktion wäre dann nur ein Aspekt dieser übergeordneten physiologischen Funktion (16).

3. Obwohl die DL- Infusion keinen Einfluss auf die motorische Aktivität hatte, soll doch noch einmal auf die interessante Tatsache hingewiesen werden, dass am Abend nach der DL- Infusion 5 von 9 Ratten eine Gewichtsreduktion von 2- 11 Gramm aufwiesen. Ein entsprechender Rückgang der Aufnahme fester Nahrung konnte dabei nicht beobachtet werden. Um diese Feststellung quantitativ einwandfrei zu dokumentieren bedürfte es allerdings einer genaueren Registrierung von Gewicht und Nahrungsaufnahme, wobei insbesondere die Wasseraufnahme nicht vernachlässigt werden dürfte. Falls diese Beobachtung bestätigt werden könnte, läge immerhin die interessante Hypothese auf der Hand, dass es im DL einen Faktor gibt, der den gesamten Grundumsatz der Ratte erhöhen würde. Ein entgegengesetzter Effekt von HL wäre dann naheliegend und müsste ebenfalls gesucht werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Liquor cerebrospinalis wurde von Donatorratten gewonnen, und zwar sowohl in der Dunkelperiode als auch in der Hellperiode ihres 12-Stunden - Dunkel/ 12-Stunden - Hell - Rhythmus. Er wurde während der Dunkelperiode in den lateralen Ventrikel von Receptor-Ratten infundiert.

Im Vergleich zur Infusion mit Liquor aus der Dunkelperiode und mit künstlichem Liquor erhielten wir durch die Infusion mit Liquor aus der Hellperiode eine signifikante Erniedrigung der motorischen Aktivität während der der Infusion folgenden zwei Stunden.

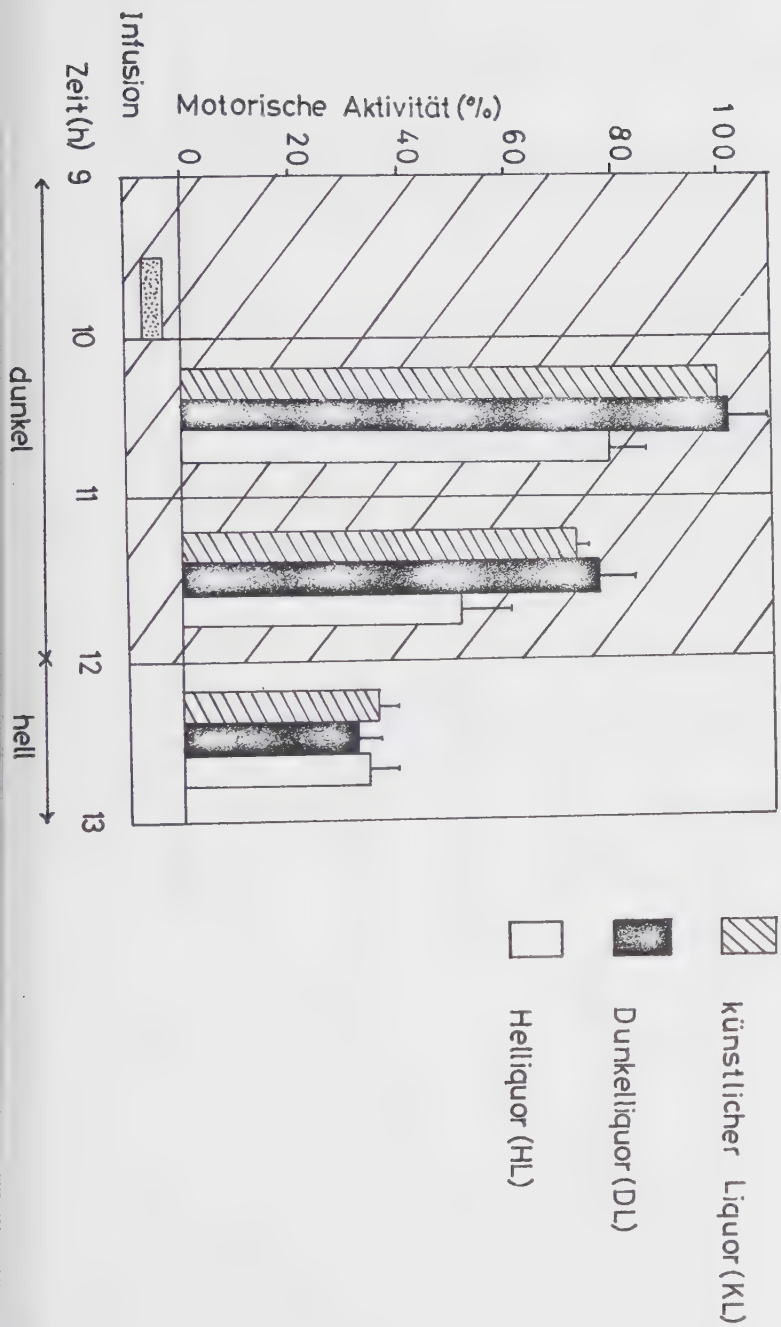
Folgerung: Es scheint durch den Liquor Übertragbare aktivitätshemmende Faktoren zu geben, die im 24 - Stunden - Aktivitäts-Rhythmus der Ratten eine Rolle spielen könnten.

LITERATUR

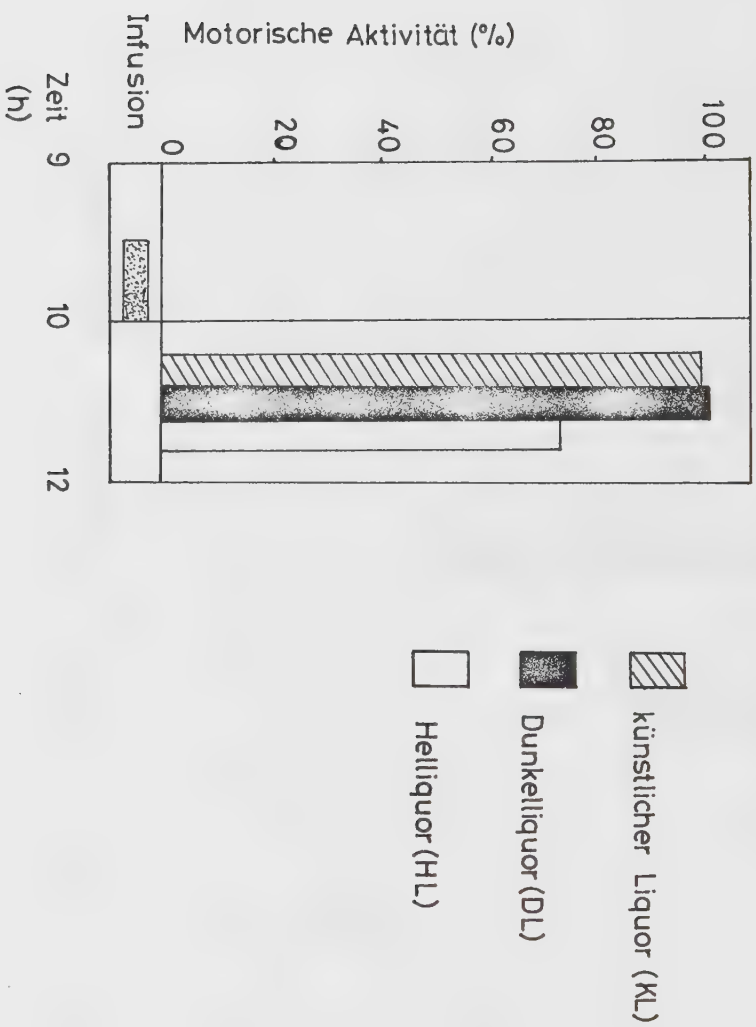
- (1) Borbély, A.A., circadian rhythm of vigilance in rats: modulation by short light - dark cycles, *Neuroscience Letters*, 1 (1975) 67 - 71.
- (2) Borbély, A.A., Huston J.P. and Waser P.G., Control of sleep states in the rat by short light - dark cycles, *Brain Res.*, 95 (1975) 89 - 101.
- (3) Borbély, A.A., Telemetry of body temperature, motor activity, food and fluid intake in the rat, *Proc. 4th Int. Congr. Pharmacol.*, Schwabe, Basel, 1970, p. 295 - 297.
- (4) Claparède, E., *Esquisse d'une théorie biologique du sommeil*. Genève, Kündig, 1905.
- (5) Fencf, V., Koski, G., and Pappenheimer, J.R., Factors in cerebrospinal fluid from Goats that affect sleep and activity in rats, *J. Physiol. (London)*, 216 (1971) 565 - 589.
- (6) Legendre, R. et Piéron, H., Des résultats histophysiologiques de l'injection intra-occipito-atlantoidienne des liquides insomniques. *C.r. Séanc. Soc. Biol.* 68 (1910), 1108 - 1109.
- (7) Maury, A., *Le sommeil et les rêves*. Paris, Didier, 1861.
- (8) Monnier, M., und Schoenenberger, G.A., Erzeugung, Isolierung und Charakterisierung eines physiologischen Schlafaktors "delta", *Schweiz. med. Wschr.*, 103 (1973), 1733 - 1743.
- (9) Monnier, M., Schoenenberger, G.A., Dudler, L. and Herkert, B., Production, isolation and further characterization of the sleep peptide delta. In P. Levin and W.P. Koella (eds.), *Sleep 1974*, Karger, Basel, 1975, pp. 41 - 46.
- (10) Myers, R.D., Casaday, G. and Holman, R.B., A simplified intracranial cannula for chemical stimulation or long term infusion of the brain, *Physiol. Behav.*, 2 (1967), 87 - 88.
- (11) Myers, R.D., Evans, J.E. and Yaksh, T.L., Ethanol preference in the rat: interactions between brain serotonin and ethanol, acetaldehyde, 5-HPT and 5-HTOL, *Neuropharmacology*, 11 (1972), 539 - 549.
- (12) Nagasaki, H., Iriki, M., Inoué, S. and Uchizono, K., The presence of a sleep promoting material in the brain of sleep deprived rats, *Proc. Jap. Acad.*, 50 (1974) 241 - 246.
- (13) Pappenheimer, J.R., Kosko, G., Fencf, V., Karnovsky, M.L. and Krueger, J., Extraction of sleep promoting factor S from cerebrospinal fluid and from brains of sleep deprived animals, *J. Neurophysiol.*, 38 (1975), 1299 - 1311.
- (14) Piéron, H., *Le problème physiologique du sommeil*, Masson, Paris, 1913.
- (15) Richter, C.P. (1967), Sleep and activity: their relation to the 24-hour clock. *Res. Publ. Ass. Res. nerv. ment. Dis.* 45, 8 - 27.
- (16) Sachs, J., Unnar, J., Waser, P.G. and Borbély, A.A., Factors in cerebrospinal fluid affecting motor activity in the rat, *Neuroscience Letters*, 2 (1976) 83- 86.

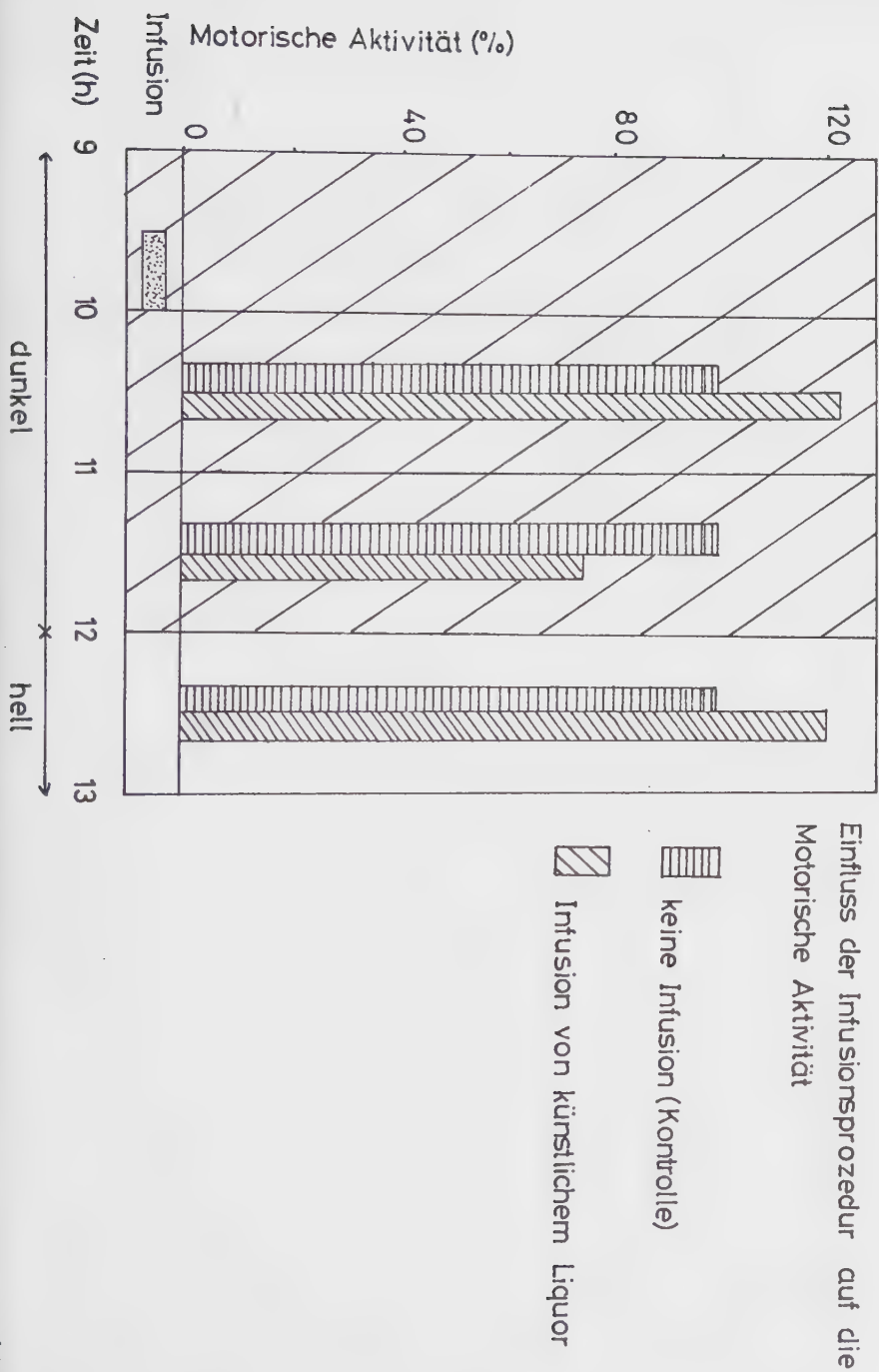
- (17) Schnedorf, J.G. and Ivy, A.C., An examination of the hypnotoxin theory of sleep, Amer. J. Physiol., 125 (1939), 491 - 505.
- (18) Schoenenberger, G.A. and Monnier, M., Isolation and partial characterization of a humoral delta sleep transmitting factor. In P. Levin and W.P. Koella (Eds.), Sleep 1974, Karger, Basel, 1975, 46 - 55.

Stundenweise Darstellung der motorischen Aktivität von 10.00 – 13.00 Uhr



Integrierte motorische Aktivität von 10.00-12.00 Uhr





CURRICULUM VITAE

Am 26. August 1949 wurde ich in Beinwil/ Freiamt geboren, wo ich 5 Jahre die Primarschule besuchte. Nach 4 Jahren Bezirksschule in Muri AG trat ich in die Kantonsschule Aarau ein, die ich 1968 mit der Maturität nach Typus C abschloss. 1969 begann ich zunächst ein Physikstudium an der ETH Zürich und legte dort die erste Vordiplomprüfung ab. Nach 3 Semestern wechselte ich das Studium und begann im Frühjahr 1971 das Medizinstudium an der Universität Zürich, welches ich im Herbst 1977 mit dem Staatsexamen abschloss. Vom 5. Juni bis zum 31. Dezember 1978 arbeitete ich als Assistenzarzt an der Kantonalen Psychiatrischen Klinik St. Urban LU, seither an der chirurgischen Abteilung des Kreisspitals Muri AG.

